

DEHP의 투여가 생쥐의 번식특성과 혈액 성분에 미치는 영향

박동현 · 장현용 · 박춘근 · 정희태 · 김정익 · 양부근[†]

강원대학교 동물자원과학대학 동물자원학부

Effect of DEHP Administration on Reproductive Characteristic and Blood Metabolite in Mice

Dong-Heon Park, Hyun-Yong Jang, Choon-Keun Park, Hee-Tae Cheong,
Chung-Ik Kim and Boo-Keun Yang[†]

Division of Animal Resource Science, College of Animal Resource Science,
Kangwon National University, Chuncheon-si 200-701, Korea

ABSTRACT : The purpose of this experiment was to determine the effects of di(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP) on reproductive characteristic, blood hematological and chemical values in mice. The male mice were intraperitoneally injected DEHP in negative control(no treatment), positive control(corn oil, 3ml/kg B.W), 0.5, 1.0 and 10.0mg DEHP/kg B.W and the female mice were injected DEHP in control(corn oil, 3ml/kg B.W), 0.5, 1.0 and 10.0mg DEHP/kg B.W with 5 times for 15 days on 3 days interval. The administration of DEHP in male mice were not affect on body weight, epididymis, vesicular gland and coagulating gland weight. The testis weight were slightly higher in DEHP treatment groups than in control. The semen characteristics(sperm concentration, viability, motility and abnormality) of male mice were not difference in all experimental groups. The RBC, Hb, HT, MCV, MCH, MCHC, PLT, albumin, BUN and total protein of blood hematological and chemical values were not affect the administration of DEHP in mice. The WBC values in 10.0mg DEHP group was slightly lower than those of any other groups. In female mice, the effects of DEHP on the body and ovary weight were not affect in all experimental groups. The uterus weight in 10.0mg DEHP group was slightly higher than those of any other groups, but not significantly difference in all experimental groups($P>0.05$). The histological evaluation of testis, ovary and uterus were not change in all experimental groups. These results indicates that administration of low concentration of DEHP was not affect the reproductive characteristic, blood hematological and chemical values.

Key words : DEHP, Reproductive organ weight, Semen characteristics, Mice, Blood hematological and chemical values.

요약 : 본 연구는 내분비 장애물질 중 관찰물질로 지정된 저 농도의 DEHP의 투여가 생쥐의 번식기능에 미치는 영향을 검토하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다. 음성 생쥐에 DEHP를 체중 kg당 무처리구, 대조구(corn oil 투여구), 0.5, 1.0 및 10.0mg DEHP를 투여한 구에서 실험개시시와 실험종료시의 체중 및 생식선의 무게(정소상체, 정낭선 및 응고선)는 투여구간에 커다란 차이가 없었으나, 정소의 무게는 DEHP 투여구가 대조구에 비해 다소 높은 경향을 나타냈지만 통계적 유의성은 인정되지 않았다. DEHP의 투여가 음성 생쥐의 정액성상에 미치는 영향을 조사한 결과, 정자농도, 생존율, 유효정자수 및 기형율에는 투여구간에 커다란 차이가 없었다. 음성의 혈액성상에 미치는 영향은 RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC, PLT, albumin, BUN 및 total protein은 각 투여구간에 차이가 없었으며, WBC는 10.0mg 투여구가 여타구보다 다소 낮은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었다($P>0.05$). 자성 생쥐의 번식기관무게에 미치는 영향은 실험개시시 체중, 실험종료시의 체중 및 난소의 무게에는 투여구간에 커다란 차이가 없었으며, 자궁의 무게는 10.0mg 투여구가 여타구에 비해 높은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았다. 자성 생쥐의 혈액성상에 미치는 영향은 WBC, RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC, albumin 및 total protein은 투여구간에 차이가 없었으며, PLT는 10.0mg 투여구가 여타구보다 다소 낮은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었다. 한편, 혈중 BUN의 함량은 0.5mg 투여구가 여타구보다 통계적으로 유의하게 높은 함량을 나타냈다. 정소, 난소 및 자궁의 조직검사에서는 모든 투여구간에 커다란 변화는 없었다.

서론

저렴한 가격과 가소성 때문에 플라스틱의 가소제로 세계

적으로 폭넓게 사용되고 있는 di-2-ethylhexylphthalate(DEHP)는 우의, 신발, 장난감 및 식품 포장지 등 플라스틱 용도에 따라 10~40% 정도가 함유되어 있으며, 혈액과 혈액생산물을 저장하는 bag 및 투석장비 등 의학용 도구에도 사용된다(Ganning *et al.*, 1984; Nassberger *et al.*, 1987; Keys *et al.*, 1999).

[†]교신저자: 강원도 춘천시 효자2동 192-1, 강원대학교 동물자원과학대학 동물자원학부. (우) 200-701, (전) 033-250-8623, (팩) 033-244-2532, E-mail: bkyang@kangwon.ac.kr

인간에서 DEHP의 노출은 호흡, 식수 및 음식을 통해서 흡수되며, 아기의 경우에는 장난감과 고무젖꼭지 등 및 옷이나

유아안전놀이기구의 접촉을 통해 노출될 수 있다(Huber *et al.*, 1996). 국제화학물질안전계획/세계보건기구(IPCS/WHO, 1992)는 1일 거주 공간을 20m³로 가정하면, 시골의 집밖에서는 공기 중 0.4~5.0ng/m³ 농도 이하의 DEHP에 노출되며, 도시의 집밖에서는 공기 중 22~790ng/m³ 정도로 노출된다고 보고하였으며, 이를 체중 kg당 일일 노출량으로 계산하면 각각 0.5~16.0ug 및 0.006~0.225ug DEHP가 된다고 보고하였다.

또한, Huber 등(1996)은 음식을 통해 하루에 섭취되는 DEHP의 양은 최소 3.8~30ug, 최대 0.27~2.0mg DEHP라고 보고하였으며, Ganning 등(1984)은 혈액을 저장하는 bags로부터 노출되는 DEHP의 농도는 혈액을 4℃에서 72시간 저장 시, 혈액내로의 DEHP의 노출은 1ℓ에 100mg DEHP인 반면, 22℃에서 72시간 저장 시 혈액내로의 DEHP의 노출은 1ℓ에 300mg DEHP 였다고 보고하였으며, Sjoberg 등(1985)은 수혈 시 혈액 1ℓ 당 노출되는 DEHP의 노출량은 13~72mg DEHP 였다고 보고하였다.

본 연구는 내분비계 장애물질 중 관찰물질로 분류되어 있는 DEHP의 투여가 생쥐의 번식기능에 미치는 영향을 규명하기 위한 연구의 일환으로서, 성숙숙된 자·웅성 생쥐에 저농도의 DEHP의 투여가 번식기관 무게, 정액 성상, 조직 검사 및 혈액성분 분석 등의 번식특성과 생리기능에 미치는 영향을 검토하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 11~12주령된 ICR 생쥐를 이용하였으며, 사육 조건은 온도 20~25℃, 습도 60~70% 및 12시간의 명암주기로 사육하였고, 사료는 제일사료의 마우스용 배합사료를 식수와 함께 자유급식시켰다.

2. DEHP의 제조 및 투여방법

DEHP(Aldrich)의 제조는 corn oil(Sigma)에 희석하여 제조하였으며, DEHP의 투여는 자·웅성 ICR 생쥐에 체중 kg당 무처리구, corn oil, 0.5, 1.0 및 10.0mg DEHP의 용량으로 3일간격으로 5회 복강주사로 투여했으며 웅성은 투여 2일 후에, 자성은 투여 7일후에 검사하였다.

Corn oil의 투여는 체중 kg당 3ml을 복강주사로 투여하였다.

3. 혈액 채취

혈액의 채취는 안와정맥총으로부터 microcapillary tube

(Chase)를 이용하여 채혈한 후 일부의 혈액은 혈구를 측정하고, 나머지 혈액은 4℃에서 24시간 정치시킨 후 혈청을 분리하여 혈청분석에 이용하였다.

4. 정액 채취

정액의 채취는 경추탈골후 정소상체 미부를 적출하여 5%의 자우혈청(Fetal bovine serum, FBS, Gibco)이 첨가된 900ul saline에 담가 세절시킨 후 정액을 채취하여 일반성상검사를 실시하였다.

5. 정액의 일반성상검사

정액의 농도 및 생존율은 sperm quality analyzer(SQA-II B, Israel)를 이용하여 측정하였으며, 유효정자수의 측정은 Makler Counting Chamber(Sefi-Medical Instruments, Israel)에 의한 전진 운동성 비율을 측정하였고, 정자의 기형률 검사는 Rose-Bengal 염색방법으로 실시하였다.

6. 번식기관 무게 측정

웅성 생쥐의 번식기관 무게 측정은 생쥐를 경추탈골 후, 정소, 정소상체, 정낭선 및 응고선을 적출한 후 정소와 정소상체를 잘라내어 filter paper에서 지방조직을 제거하고 무게를 측정하였다. 자성생쥐의 번식기관 무게 측정은 생쥐를 경추탈골 후, 질, 자궁 및 난소를 적출한 후 filter paper에서 지방조직을 제거하고 무게를 측정하였다.

7. 혈구분석 및 혈청분석

혈액의 혈구성분분석은 혈구자동분석기(Cobas Minos, Roch, France)를 이용하여 혈구화학치를 측정하였으며, 혈청분석은 자동 혈청분석기(Expressplus, Ciba-coming, U.S.A)을 이용하여 albumin, blood urea nitrogen(BUN) 및 total protein을 측정하였다.

8. 번식기관의 조직검사

번식기관의 조직검사는 Hematoxylin-Eosin 염색방법으로 실시하였다. 적출한 좌,우측 정소, 난소 및 자궁을 Bouin 용액(Sigma)에 24시간 동안 고정시킨 후, automatic tissue processor(Hypercenter, Shandon)를 이용하여 탈수, 투명, paraffin 침투 과정을 거친 다음, 포매, 삭정, 박절, 염색 및 봉입하였다. 염색과정은 탈 paraffin과 함수과정을 거친 조직을 세척하고 hematoxylin과 eosin 염색액으로 각각 3분간 염색한 다음, 탈수와 투명과정을 거쳐 slide를 준비한후 위상차 현미경하에서 관찰하였다.

9. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SAS Package를 이용하여 분산 분석을 실시하였으며, 최소 유의차검정(Least Significant Difference test; LSD test)을 실시하여 통계처리를 실시하였다.

결 과

DEHP의 투여가 웅성 생쥐의 번식기관 무게에 미치는 결과를 Table 1에 요약하였다.

웅성 생쥐에 DEHP를 체중 kg당 무처리구, 대조구, 0.5, 1.0 및 10.0mg DEHP를 투여한 구에서 실험개시 체중과 실험종료시의 체중은 각 투여구간에 커다란 차이는 없었다($P>0.05$).

번식기관 중 오른쪽 정소의 무게는 1.0mg 투여구와 10.0mg 투여구가 각각 0.114 및 0.114g으로 여타구(무처리구, 0.105; 대조구, 0.103 및 0.5mg 투여구, 0.110g)보다 다소 높은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었으며, 왼쪽 정소의 무게는 각각 0.101, 0.098, 0.103, 0.109 및 0.110g으로 투여구간에 차이는 없었다($P>0.05$). 좌·우측 정소상체, 정낭선 및 응고선의 무게에서도 각 투여구간에 차이가 없었다($P>0.05$).

DEHP의 투여가 웅성 생쥐의 혈액성상 및 혈액성상에 미치는 결과를 Table 2와 3에 요약하였다.

Table 2에 나타난 바와 같이 정액의 일반성상을 검사한 결과, 정자농도, 생존율 및 유효정자 수는 각 투여구간에 차이가

Table 2. Effects of DEHP administration on the semen characteristics in male mice

DEHP (mg/kg B.W)	Sperm con. ³⁾ ($\times 10^7$)	Viability (%)	Motility (%)	Abnormality (%)
Control 1 ¹⁾	38.08 \pm 4.14	40.84 \pm 5.24	30.74 \pm 7.31	16.54 \pm 1.05
Control 2 ²⁾	39.56 \pm 5.33	40.66 \pm 5.74	31.46 \pm 6.69	16.34 \pm 4.78
0.5	37.42 \pm 5.83	40.82 \pm 6.89	28.50 \pm 3.65	18.60 \pm 4.13
1.0	38.28 \pm 6.91	38.60 \pm 5.75	28.46 \pm 6.57	19.20 \pm 3.91
10.0	38.12 \pm 5.28	39.88 \pm 7.66	30.40 \pm 5.08	19.06 \pm 4.08

1) No treatment, 2) Corn oil (3ml/kg B.W), 3) Sperm concentration.

없었으며, 정자의 기형율은 각각 16.54%, 16.34%, 18.60%, 19.20% 및 19.06%로서 투여구가 대조구에 비해 다소 높은 기형율을 나타냈다.

DEHP 투여가 웅성 생쥐의 혈액성상에 미치는 영향을 조사한 결과, WBC는 10.0mg 투여구가 $8.90 \times 10^3/\text{mm}^3$ 으로서 여타구(무처리구, 9.85; 대조구, 9.88; 0.5mg 투여구, 9.91 및 1.0mg 투여구, $9.76 \times 10^3/\text{mm}^3$)보다 다소 낮은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었으며($P>0.05$), RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC 및 PLT 투여구간에 유의적인 차이는 인정되지 않았다($P>0.05$).

한편, 혈중 albumin의 함량은 각각 1.68, 1.48, 1.74, 1.68 및 1.62g/dl로서 각 투여구간에 차이가 없었으며, 혈중 BUN의

Table 1. Effects of DEHP on body weight and reproductive organ weight in male mice

Parameter (g)		Control 1 ¹⁾	Control 2 ²⁾	DEHP (mg/kg B.W)		
				0.5	1.0	10.0
Body weight	Initial	33.70 \pm 3.93	33.60 \pm 5.01	33.70 \pm 3.76	33.48 \pm 3.79	33.50 \pm 3.23
	Final	34.73 \pm 2.66	33.76 \pm 3.08	33.31 \pm 4.02	34.43 \pm 3.73	33.98 \pm 3.09
Testis	Right	0.105 \pm 0.015	0.103 \pm 0.013	0.110 \pm 0.016	0.114 \pm 0.015	0.114 \pm 0.015
	Left	0.101 \pm 0.012	0.098 \pm 0.011	0.103 \pm 0.014	0.109 \pm 0.014	0.110 \pm 0.014
Epididymis	Right	0.036 \pm 0.005	0.037 \pm 0.003	0.039 \pm 0.005	0.040 \pm 0.004	0.039 \pm 0.004
	Left	0.036 \pm 0.004	0.037 \pm 0.005	0.037 \pm 0.005	0.041 \pm 0.004	0.038 \pm 0.005
Vesicular gland	Right	0.075 \pm 0.027	0.072 \pm 0.022	0.069 \pm 0.030	0.072 \pm 0.014	0.071 \pm 0.029
	Left	0.083 \pm 0.023	0.070 \pm 0.026	0.068 \pm 0.030	0.079 \pm 0.021	0.068 \pm 0.026
Coagulating gland	Right	0.0046 \pm 0.0011	0.0044 \pm 0.0010	0.0051 \pm 0.0012	0.0052 \pm 0.0011	0.0050 \pm 0.0008
	Left	0.0043 \pm 0.0012	0.0045 \pm 0.0005	0.0051 \pm 0.0016	0.0050 \pm 0.0012	0.0047 \pm 0.0010

1) No treatment, 2) Corn oil (3ml/kg B.W).

Table 3. Effects of DEHP administration on blood hematological and chemical values in male mice

Parameter	Control 1 ¹⁾	Control 2 ²⁾	DEHP (mg/kg B.W)		
			0.5	1.0	10.0
WBC (10 ³ /mm ³)	9.85± 1.58	9.88± 1.69	9.91± 1.68	9.76± 1.91	8.90±2.48
RBC (10 ⁶ /mm ³)	10.38± 1.49	10.04± 0.71	10.11± 1.17	10.32± 0.80	10.47± 1.27
HB (g/dl)	16.58± 1.58	16.44± 2.03	16.95± 2.32	17.32± 1.17	17.01± 2.16
HT (%)	47.24± 5.03	46.89± 5.06	47.82± 6.00	48.21± 3.41	48.98± 4.77
MCV (um ³)	47.08± 1.50	47.61± 2.16	47.62± 2.50	46.64± 0.85	46.67± 1.86
MCH (pg)	16.50± 0.54	16.73± 0.84	16.71± 1.20	16.82± 0.66	16.24± 0.75
MCHC (g/dl)	35.16± 0.71	35.24± 1.34	35.18± 1.18	36.07± 1.30	35.26± 1.31
PLT (10 ³ /mm ³)	923.8 ±132.4	996.0 ±156.9	932.3±154.3	1,018.5 ±94.7	954.0 ±137.8
Albumin (g/dl)	1.68± 0.13	1.48± 0.17	1.74± 0.19	1.68± 0.19	1.62± 0.23
BUN (mg/dl)	13.02± 1.40	11.08± 2.26	11.38± 2.32	12.22± 1.62	11.96± 2.29
TP (g/dl)	3.18± 0.30	2.84± 0.40	3.26± 0.32	3.08± 0.44	3.10± 0.35

1) No treatment, 2) Corn oil (3ml/kg B.W)

WBC : White blood cell, RBC : Red blood cell, HB : Hemoglobin, HT : Hematocrit, MCV : Mean corpuscular volume, MCH : Mean corpuscular hemoglobin, MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT : Platelets, BUN : Blood Urea Nitrogen, TP : Total protein

함량은 각각 13.02, 11.08, 11.38, 12.22 및 11.96mg/dl로서 차이가 없었고, 혈중 total protein의 함량은 각각 3.18, 2.84, 3.26, 3.08 및 3.10g/dl로서 각 투여구간에 차이가 없었다($P>0.05$).

Fig. 1은 DEHP의 투여가 정소의 조직에 미치는 영향을 검토한 결과로서, 세정관의 정자형성세포의 크기, 모양 및 발육 정도, Sertoli 세포의 변화, 간질세포의 수, 크기 및 실질과 간질의 비율 등은 조사한 결과, 각 투여구간에 커다란 차이는 없었다.

DEHP의 투여가 자성생쥐의 번식기관무게와 혈액성상에 미치는 결과를 Table 4과 5에 요약하였다.

체중 kg당 대조구, 0.5, 1.0 및 10.0mg DEHP의 투여구에서 실험개시 체중과 실험종료시 체중은 각 투여구간에 커다란 차이는 없었다($P>0.05$).

자궁의 무게는 10.0mg 투여구가 0.1267g으로 여타구(대조구, 0.1116 ; 0.5mg 투여구, 0.1065 및 1.0mg 투여구, 0.1121g)보다 다소 높은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았으며, 좌·우측 난소의 무게에서도 투여구간에 차이가 없었다.

자성 생쥐의 혈액성상에 대한 결과에서 WBC, RBC, HB, HT, MCV, MCH 및 MCHC는 투여구간에 차이가 없었으며, PLT는 10.0mg 투여구가 $771.6 \times 10^3 / \text{mm}^3$ 으로 여타구(대조구, 841.2, 0.5mg 투여구, 845.1 및 1.0mg 투여구, $837.0 \times 10^3 / \text{mm}^3$)

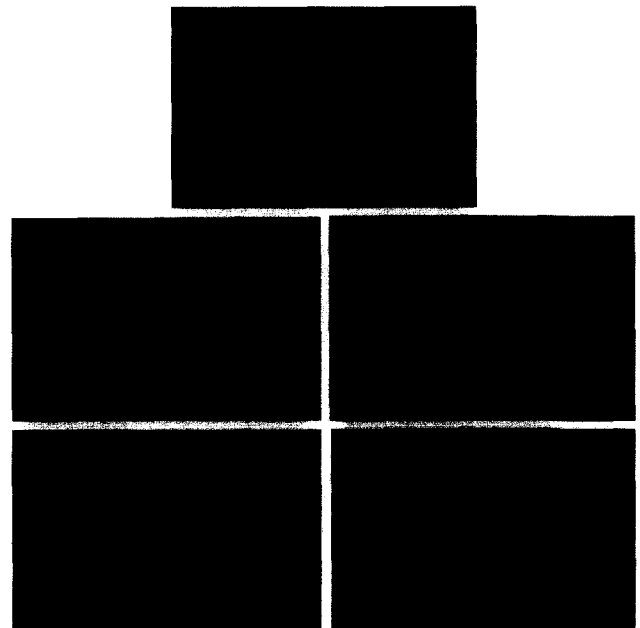


Fig. 1. Light micrograph of testis administrated to the DEHP for 2 weeks in mouse. H&E stain(x200).

1-1. Negative control as no administration of DEHP, 1-2. Positive control as corn oil administration, 1-3. 0.5mg/kg B.W DEHP administration, 1-4. 1.0mg/kg B.W DEHP administration, 1-5. 10.0mg/kg B.W DEHP administration.

보다 다소 낮은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었다

Table 4. Effects of DEHP administration on body and reproductive organ weight in female mice

DEHP (mg/kg B.W)	Body weight(g)		Uterus (g)	Ovary(g)	
	Initial	Final		Right	Left
Control	30.59±4.10	31.20±3.89	0.1116±0.036	0.0086±0.0016	0.0082±0.0015
0.5	30.55±3.24	31.35±3.22	0.1065±0.028	0.0077±0.0015	0.0079±0.0016
1.0	30.02±2.62	30.55±2.99	0.1121±0.042	0.0079±0.0022	0.0081±0.0021
10.0	30.15±2.76	30.54±3.39	0.1267±0.048	0.0089±0.0022	0.0081±0.0016

Table 5. Effects of DEHP administration on blood hematological and chemical values in female mice

Parameter	DEHP (mg/kg B.W)			
	0	0.5	1.0	10.0
WBC ($10^3/mm^3$)	8.02 ± 1.66	8.38 ± 2.08	8.01 ± 1.29	8.95 ± 1.60
RBC ($10^6/mm^3$)	10.98 ± 0.74	10.50 ± 0.56	11.02 ± 0.46	10.88 ± 0.49
HB (g/dl)	17.70 ± 1.18	17.11 ± 0.83	17.81 ± 0.86	17.16 ± 1.05
HT (%)	48.31 ± 2.34	47.23 ± 2.22	48.53 ± 1.54	47.34 ± 2.55
MCV (μm^3)	44.44 ± 1.43	44.18 ± 1.46	43.82 ± 0.99	43.63 ± 1.09
MCH (pg)	16.11 ± 0.72	15.91 ± 0.83	15.89 ± 0.55	15.75 ± 0.43
MCHC (g/dl)	36.46 ± 0.72	36.40 ± 0.63	36.49 ± 0.61	36.11 ± 0.49
PLT ($10^3/mm^3$)	841.2 ± 64.3	845.1 ± 101.9	837.0 ± 97.8	771.6 ± 26.64
Albumin (g/dl)	1.70 ± 0.10	1.74 ± 0.05	1.76 ± 0.08	1.72 ± 0.16
BUN (mg/dl)	10.52 ^b ± 1.13	13.84 ^a ± 1.28	12.36 ^{ab} ± 2.00	11.42 ^b ± 0.71
TP (g/dl)	3.32 ± 0.23	3.24 ± 0.08	3.18 ± 0.16	3.12 ± 0.23

^{ab} Values with different superscripts within same rows are significantly differ, $P < 0.05$.

WBC : White blood cell, RBC : Red blood cell, HB : Hemoglobin, HT : Hematocrit, MCV : Mean corpuscular volume, MCH : Mean corpuscular hemoglobin, MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT : Platelets, BUN : Blood Urea Nitrogen, TP : Total protein.

($P > 0.05$).

한편, 혈중 albumin의 함량은 각각 1.70, 1.74, 1.76 및 1.72g/dl로서 각 투여구간에 차이가 없었지만($P > 0.05$), 혈중 BUN의 함량은 0.5mg 투여구가 13.84mg/dl로서 대조구(10.52mg/dl) 및 10.0mg 투여구(11.42mg/dl)보다 통계적으로 유의하게 높은 함량을 나타냈다($P < 0.05$). 혈중 total protein의 함량은 각각 3.32, 3.24, 3.18 및 3.12g/dl로서 각 투여구간에 차이가 없었다($P > 0.05$).

DEHP의 투여가 자성 생쥐의 난소와 자궁의 조직에 미치는 결과는 Fig. 2 및 3과 같다.

난소에서는 과립막과 난포외막, 난포발육상태 및 황체 등을 조사한 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 각 투여구간에 차이는 없었으며, 자궁은 자궁내막의 변화, 자궁근층의 두께와

세포크기 및 염증상태를 조사한 결과, Fig. 3에 나타난 바와 같이 각 투여구간에 커다란 차이는 인정되지 않았다.

고 찰

DEHP는 저렴한 가격과 가소성 때문에 우의, 신발, 장난감 및 식품 포장지 등에 플라스틱의 가소제로서 폭넓게 사용되고 있으며 의학적 도구에도 사용되는 물질이다(Ganning *et al.*, 1984; Nassberger *et al.*, 1987; Keys *et al.*, 1999).

DEHP가 인간과 설치류에 미치는 영향에 대한 보고에 의하면, 간에서는 간의 무게를 증가시키고 peroxisome을 증식시키며 간암을 유발하는 것으로 보고되고 있으며, 미국에서는 암을 유발시킬 수 있는 물질로 분리하고 있다(Busser &

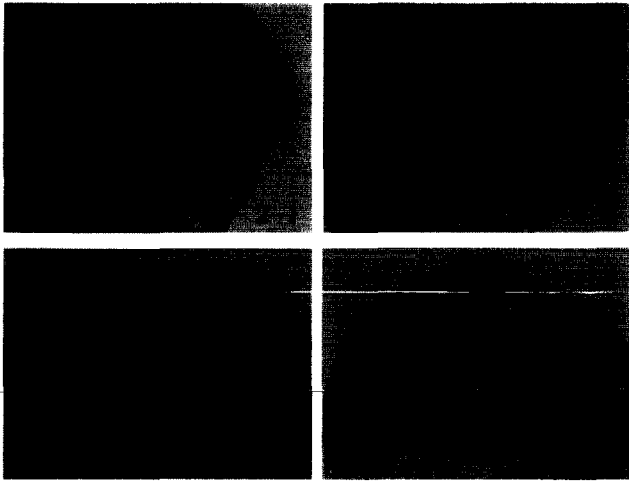


Fig. 2. Light micrograph of ovary administrated to the DEHP for 2 weeks in mouse. H&E stain($\times 100$).

2-1. Control as corn oil administration, 2-2. 0.5mg/kg B.W DEHP administration, 2-3. 1.0mg/kg B.W DEHP administration, 2-4. 10.0mg/kg B.W DEHP administration.

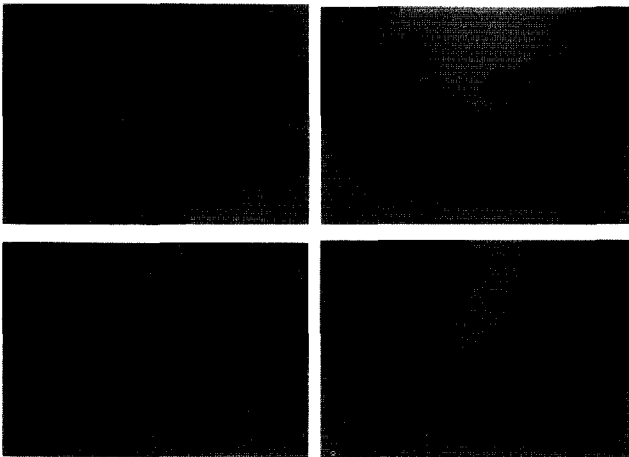


Fig. 3. Light micrograph of uterus administrated to the DEHP for 2 weeks in mouse. H&E stain($\times 100$).

3-1. Control as corn oil administration, 3-2. 0.5mg/kg B.W DEHP administration, 3-3. 1.0mg/kg B.W DEHP administration, 3-4. 10.0mg/kg B.W DEHP administration.

Lutz, 1987; Woodward, 1990). 또한, 정자 기형율의 증가, 정소 무게의 감소, 세정관의 위축, Sertoli 세포의 공포화, 갑상선세포의 축소, 태아의 외부 기형 증가 및 염색체 이상의 증가 등이 보고되고 있지만(Agarwal *et al.*, 1986; Tsutsui *et al.*, 1993; Grays *et al.*, 1997), 같은 투여경로, 투여량 및 투여기간에서도 연구자들간에 상이한 결과를 보고하고 있다.

본 실험에서는 DEHP의 투여가 음성 생쥐의 체중, 정소, 정소상체, 정낭선 및 응고선의 무게에 미치는 영향을 조사한 결과, 생쥐의 체중, 정소상체, 정낭선 및 응고선의 무게는 투

여구간에 커다란 차이가 없었으며, 정소의 무게는 DEHP 투여구가 다소 높은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었다.

Agarwal 등(1986)은 성숙된 음성 F344 rat에 320~20,000ppm DEHP를 사료에 혼합해서 공급한 결과, 5,000 및 20,000ppm DEHP 급여구에서 몸무게, 정소, 정소상체 및 전립선의 무게가 감소했으며, 혈청내 testosterone 농도가 감소하는 경향이 있는 반면, LH와 FSH의 농도는 증가하였다고 보고하였으며, Gray 등(1997)은 rats에 1% 및 2% DEHP를 첨가한 사료를 2주 동안 급여지, 1% DEHP 첨가구에서는 제정관 위축 및 정소정자가 감소하였으며, 2% 첨가구에서는 정소 무게가 감소하였다고 보고하였다.

반면, Curto와 Thomas(1982)는 Swiss-webster 생쥐에 체중 kg당 1.0~100.0mg의 DEHP 및 MEHP를 5일 또는 10일간 복강주사로 투여한 결과, 전립선, 정낭선 및 정소의 무게는 투여구간에 차이가 없었다는 보고와 함께 Oishi(1989)은 음성 rat에 체중 kg당 1g DEHP를 7일간 투여한 결과, 정소와 전립선의 무게에는 효과가 없었다고 보고하였다.

DEHP에 의한 정소내 Zn 농도의 감소는 정자세포와 정모세포의 손실을 일으키는 세정관 위축을 유발하며 부생식기관을 위축시키는 것으로 보고되고 있는데, Oishi(1985)는 음성 Wistar rat에 체중 kg당 2.0g DEHP를 14일간 투여한 결과, 정소무게와 정소내 testosterone 농도 및 Zn 농도가 감소했으며, 45일간의 회복기를 거친 후에도 대조구에 비해서는 제한적으로 회복된다고 보고하였다. Parmar 등(1987)은 체중 kg당 2,000mg DEHP의 투여가 정소 위축에 미치는 효과를 검토한 결과, 정자의 숫자가 감소하였으며, 정자의 성숙과 관계가 있는 정소의 효소들인 r-glutamyl transpeptidase(γ -GGT), lactate-dehydrogenase(LDH), sorbitoldehydrogenase(SDM), β -glucuronidase 및 acid phosphatase등이 현저하게 감소되었다고 보고하였다. 반면, Douglas 등(1986)은 B6C3F1 생쥐에 체중 kg당 0.6~6.0g DEHP를 5회 투여하고 2주 간격으로 12주까지 정자두부의 기형을 조사한 결과, 각 투여구간에 차이가 없었다고 보고하였다.

본 실험에서 DEHP의 투여가 음성 생쥐의 정액성상에 미치는 영향을 조사한 결과, 정자농도, 생존율, 유효정자수 및 기형율에는 투여구간에 커다란 차이가 없었으며, 음성의 혈액성상에 미치는 영향에서는 RBC, HB, HT, MCV, MCH, MCHC, PLT, albumin, BUN 및 total protein은 각 투여구간에 차이가 없었으며($P > 0.05$), WBC는 10.0mg 투여구가 $8.90 \times 10^3/\text{mm}^3$ 으로서 여타구(무처리구, 9.85; 대조구, 9.88; 0.5mg 투여구, 9.91 및 1.0mg 투여구, $9.76 \times 10^3/\text{mm}^3$)보다 다소 낮은 수치를

나타냈지만 통계적 유의차는 없었다. 본 실험이 이들 연구 결과와의 차이는 DEHP의 투여농도와 투여방법에 기인된다고 사료된다.

자성에서 DEHP의 독성은 난소 무게의 감소와 호소 활성의 변화 등이 보고되고 있는데, Davis 등(1994)은 성숙된 자성 SD rat에 체중 kg당 2g DEHP를 12일 동안 경구로 공급시, 발정주기가 연장되었으며, 난포의 granulosa 세포의 크기를 감소시켜 배란 전 난포의 크기를 감소시켰으며, estradiol 분비를 억제시켜 무배란주기와 다낭포성 난소가 발생한다고 보고하였으며, Laskey와 Berman 등(1993)은 난소조직의 체외 배양시 DEHP의 첨가에 의해 유도되는 steroid 호르몬의 분비 변화는 대부분 발정휴지기과 발정기동안 일어나며, 발정휴지기에 DEHP를 처리하면 testosterone과 estradiol의 분비가 증가하지만, 발정기에 DEHP를 처리하면 estradiol의 분비가 감소한다고 보고하였다. Agarwal 등(1989)은 자성 ICR 생쥐에 회색하지 않은 원액을 체중 kg당 1.0~100ml DEHP의 농도로 1일, 5일 및 10일에 피하주사로 투여시, 자성생쥐의 폐사율과 난소의 무게는 투여구간에 차이가 없었으나, DEHP 투여구가 낮은 체내 수정율을 보였으며, 10ml DEHP 투여구 이상에서 난소의 ATPase 활성이 감소했으며, DNA, RNA 및 단백질의 농도가 통계적으로 낮은 함량을 나타냈다고 보고하였다.

본 실험에서 자성 생쥐의 번식기관 무게에 미치는 영향은 실험개시시 체중, 실험종료시의 체중 및 난소의 무게에는 투여구간에 커다란 차이가 없었으며, 자궁의 무게는 각각 0.116, 0.1065, 0.1121 및 0.1267g으로 10.0mg 투여구가 여타구에 비해 다소 높은 무게를 나타냈지만 통계적 유의차는 인정되지 않았다.

한편, 자성 생쥐의 혈액 성상에 미치는 영향은 WBC, RBC, Hb, HT, MCV, MCH, MCHC, albumin 및 total protein은 투여구간에 차이가 없었으며, PLT는 10.0mg 투여구가 $771.6 \times 10^3/\text{mm}^3$ 으로 여타구(대조구, 841.2, 0.5mg 투여구, 845.1 및 1.0mg 투여구, $837.0 \times 10^3/\text{mm}^3$)보다 다소 낮은 수치를 나타냈지만 통계적 유의차는 없었다. 혈중 BUN의 함량은 0.5mg 투여구가 여타구보다 통계적으로 유의하게 높은 함량을 나타냈다($P < 0.05$). DEHP의 투여가 정소, 난소 및 자궁의 조직에 미치는 영향을 조사한 결과에서는 모든 투여구간에 차이가 없었다.

DEHP 투여 후 번식기능에 미치는 영향에 대한 실험 결과들은 대부분 실생활에서 노출될 수 있는 농도보다 매우 높은 농도에서 수행되었기 때문에 본 실험의 결과와는 상이한 결과를 나타냈다.

본 실험의 결과, 저 농도의 DEHP를 15일간 5회 복강투여는 ICR 생쥐의 번식기능과 혈액성분에는 커다란 영향이 없

는 것으로 나타났다.

인용문헌

- Agarwal DK, Eustis S, Lamb JC, Real JR, Kluwe WM (1986) Effects of di(2-ethylhexyl) phthalate on the gonadal pathophysiology, sperm morphology and reproductive performance of male rats. *Environ Health Perspect* 65:343-350.
- Agarwal DK, Lawrence WH, Turner JE, Autian J (1989) Effects of parenteral di(2-ethylhexyl)phthalate on gonadal biochemistry, pathology and reproductive performance of mice. *J Toxicol Environ Health* 26:39-59.
- Busser MT, Lutz WK (1987) Stimulation of DNA synthesis in rat and mouse liver by various tumor promoters. *Carcinogenesis* 8:1433-1437.
- Curto KA, Thomas JA (1982) Comparative effects of diethylhexyl phthalate or monoethylhexyl phthalate on male mouse and rat reproductive organs. *Toxicol Appl Pharmacol* 62:121-125.
- Davis BJ, Maronpot RR, Heindel JJ (1994) Di(2-ethylhexyl)-phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 128:216-223.
- Douglas GR, Hugenholtz AP, Blakey DH (1986) Genetic toxicology of phthalate esters : mutagenic and other genotoxic effects. *Environ Health Perspect* 65:255-262.
- Ganning AE, Brunk U, Dallner G (1984) Phthalate esters and their effect on the liver. *Hepatology* 4:541-547.
- Grays TJB, Butterworth KR, Gaunt IF, Grasso P, Gangolli SD (1997) Short-term toxicity study of di-(2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Food Cosmet Toxicol* 15:389-399.
- Huber WW, Grasi-Kraupp B, Schulte-Hermann R (1996) Hepatocarcinogenic potential of di(2-ethylhexyl) phthalate in rodents and its implication on human risk. *Crit Rev Toxicol* 26:365-481.
- IPCS/WHO (1992) International Programme on Chemical Safety/ World Health Organization, Diethylhexyl phthalate. *Environ Health Criteria* 131:1-141.
- Keys DA, Wallace DG, Kepler TB, Conolly RB (1999) Quantitative evaluation of alternative mechanism of blood and testes disposition of di(2-ethylhexyl) phthalate and mono(2-ethylhexyl)phthalate in rats. *Toxicol Sci* 49:172-185.
- Laskey JW, Berman E (1993) Steroidgenic assessment using

- ovary culture in cycling rats : effect of di(2-ethylhexyl)-phthalate on ovarian steroid production. *Reprod Toxicol* 7:25-33.
- Nassberger L, Arbin A, Ostlius J (1987). Exposure of patients to phthalates from polyvinyl chloride tubes and bags during dialysis. *Nephron* 45:286-290.
- Oishi S (1985) Reversibility of testicular atrophy induced by di(2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Environ Res* 36:160-169.
- Oishi S (1989) Effects of co-administration of di(2-ethylhexyl)-phthalate and testosterone on several parameters in the testis and pharmacokinetics of its mono-de-esterified metabolite. *Arch Toxicol* 63:289-295.
- Parmar D, Srivastava SP, Singh GB, Seth PK (1987) Effect of testosterone on the testicular atrophy caused by di(2-ethylhexyl)-phthalate. *Toxicol Lett* 36:297-308.
- Sjoberg P, Bondesson U, Sedin G, Gustafsson J (1985) Dispositions of di-and mono-(2-ethylhexyl) phthalate in newborn infants subjected to exchange transfusions. *Eur J Clin Invest* 15:430-436.
- Tsutsui T, Watanabe E, Barrett JC (1993) Ability of peroxisome proliferators to induce cell transformation, chromosome aberrations and peroxisome proliferation in watured syrian hamsters embryo cell. *Carci-nogenesis* 14:611-618.
- Woodward KN (1990) Phthalate esters, cystic kidney disease in animals and possible effects on human health : a review. *Hum Exp Toxicol* 9:397-401.